

第 13 回バイオ関連化学 シンポジウム

中本 妃咲

Kisaki NAKAMOTO

物質化学専攻修士課程 2年

1. はじめに

私は2019年9月4日から6日にかけ、東北大学青葉山東キャンパスで開催された「第13回バイオ関連化学シンポジウム」に参加し、『カルボキシ基を有するコラーゲンモデルペプチドの合成と構造評価』をテーマにポスター発表を行った。

2. 研究背景

病気やけがで失われた骨を補填する方法のひとつである自家骨移植は、自家骨を採取するため患者に大きな負担を強いるため、現在人工骨の需要が高まっている。人工骨の材料として広く用いられているヒドロキシアパタイトは高い骨親和性と吸収性を持っているが、無機物ゆえに硬くてもろく、骨の組織になじみにくい材料となっている。そこで、骨などに存在する繊維状のタンパク質であり、生体材料に広く応用されているコラーゲンとヒドロキシアパタイトを複合化させることにより強度および親和性の増強を図る方法が注目されている。しかし、天然のコラーゲンは陸上生物由来の人獣共通感染症のリスクや水生生物由来の変性温度の低さから、化学合成されたコラーゲンモデルペプチドを用いることでこれらの問題点を改善する方法が有力であると考えられる。本研究では、カルシウムイオン応答性のコラーゲン分子を獲得するために、カルボキシ基を有する新規コラーゲンモデルペプチドの合成と二次構造評価を行った。

3. 実験方法

固相合成法によりコラーゲンモデルペプチドを合成し、逆相 HPLC により精製、MALDI-TOF-MS で

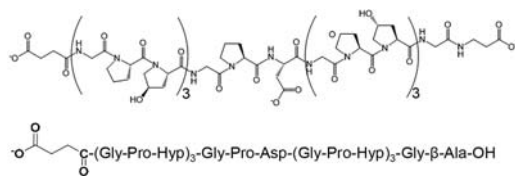


図 1 コラーゲンモデルペプチドの配列

同定した。精製ペプチドを緩衝液中 200 μM の濃度で 4 $^{\circ}\text{C}$ 、24 h 自己集合化を行い、CD スペクトルによる二次構造評価を試みた。

4. 結果と考察

CD スペクトルの結果から 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下では 200 nm 付近に負のピーク、225 nm 付近に正のピークがあることより、トリプルヘリックス構造であると考えられる。80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下では 225 nm 付近の正のピークが消失し、200 nm 付近の負のピークが確認できる。構造転移後、再び 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下でインキュベートすると、ランダム構造から再びトリプルヘリックス構造へと転移した。このときの熱変性温度は 29 $^{\circ}\text{C}$ であ

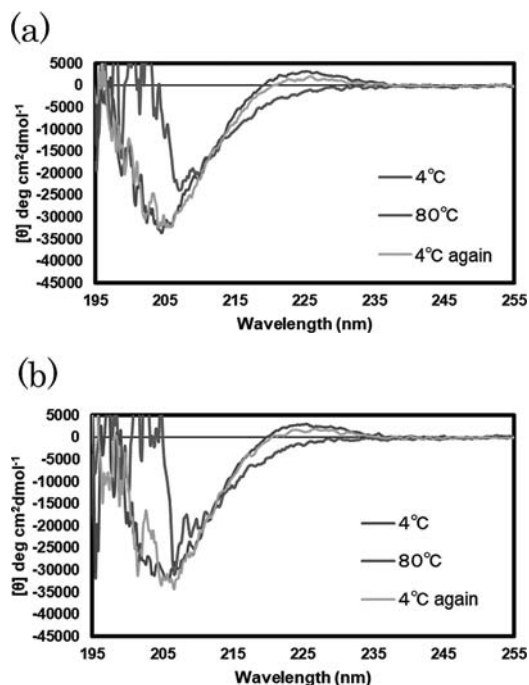


図 2 (a) $[\text{CaCl}_2] = 0 \text{ mM}$ 時 CD スペクトル
(b) $[\text{CaCl}_2] = 100 \text{ mM}$ 時 CD スペクトル

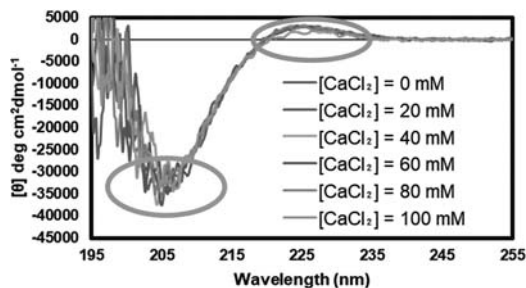


図3 カルシウムイオン添加時の CD スペクトル

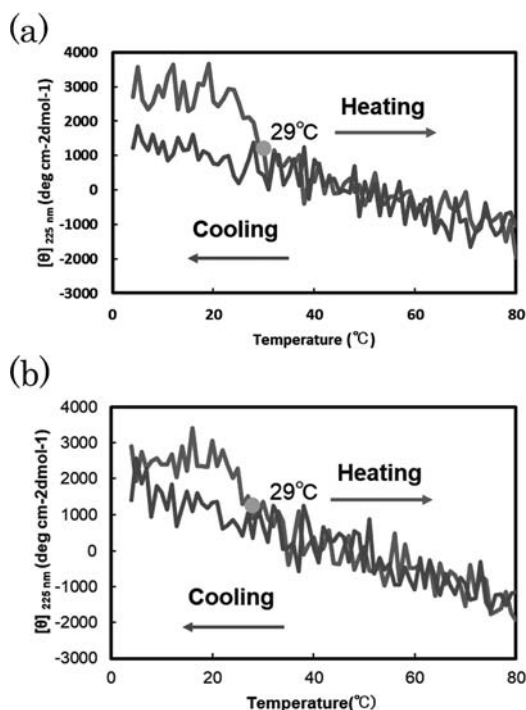


図4 (a) $[CaCl_2] = 0 \text{ mM}$ 時の熱変性温度
(b) $[CaCl_2] = 100 \text{ mM}$ 時の熱変性温度

った。また、本ペプチド水溶液にカルシウムイオンを添加したところ、二次構造、熱変性温度ともに大きな変化は見られなかったが、 80°C から 4°C にペプチド溶液の温度を下げた際に、カルシウムイオン非存在下に比べてわずかに巻き戻りが早いことが分かった。

5. まとめ

CD スペクトルより、合成したコラーゲンモデルペプチドがカルシウムイオンの存在に関係なく、トリプルヘリックス構造をとることが分かった。熱変性温度はいずれも 29°C であった。今後はコラーゲンモデルペプチドの繰り返し回数を増やした新規コラーゲンモデルペプチドの合成と、ヒドロキシアパタイトとの複合化を行っていく。

6. おわりに

今回は2回目の発表ということで前回よりも落ち着いて発表することができました。たくさんの方に、意見や質問を頂くことができ嬉しかったです。今後の研究に活かしたいと思います。最後に研究のご指導頂いた富崎先生ならびに研究生方に深くお礼申し上げます。